

This Page Is Inserted by IFW Operations  
and is not a part of the Official Record

## **BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning documents *will not* correct images,  
please do not report the images to the  
Image Problem Mailbox.**

JP1993285375A

1993-11-2

## Bibliographic Fields

## Document Identity

(19)【発行国】

日本国特許庁 (JP)

(12)【公報種別】

公開特許公報 (A)

(11)【公開番号】

特開平5-285375

(43)【公開日】

平成5年(1993)11月2日

## Public Availability

(43)【公開日】

平成5年(1993)11月2日

## Technical

(54)【発明の名称】

ケラチンS-スルフォ塩を壁構成原料として用いるマイクロカプセル及びその製造方法

(51)【国際特許分類第5版】

B01J 13/04

A61K 9/50 C 7329-4C

47/42 D 7433-4C

B01J 13/02

【FI】

B01J 13/02 A 8317-4G

L 8317-4G

【請求項の数】

5

【全頁数】

5

## Filing

【審査請求】

未請求

(21)【出願番号】

特願平4-116820

(22)【出願日】

(19) [Publication Office]

Japan Patent Office (JP)

(12) [Kind of Document]

Unexamined Patent Publication (A)

(11) [Publication Number of Unexamined Application]

Japan Unexamined Patent Publication Hei 5 - 285375

(43) [Publication Date of Unexamined Application]

1993 (1993) November 2 days

(43) [Publication Date of Unexamined Application]

1993 (1993) November 2 days

(54) [Title of Invention]

MICROCAPSULE AND ITS MANUFACTURING METHOD WHICH USE KERATIN S - SULFO SALT AS WALL CONSTITUTION STARTING MATERIAL

(51) [International Patent Classification, 5th Edition]

B01J 13/04

A61K 9/50 C 7329-4C

47/42 D 743 3-4C

B01J 13/02

【FI】

B01J 13/02 A 8 31 7-4G

L 8 31 7-4G

[Number of Claims]

5

[Number of Pages in Document]

5

[Request for Examination]

Unrequested

(21) [Application Number]

Japan Patent Application Hei 4 - 116820

(22) [Application Date]

JP1993285375A

1993-11-2

平成4年(1992)4月9日

1992 (1992) April 9 days

**Parties**

**Applicants**

(71)【出願人】

(71) [Applicant]

【識別番号】

[Identification Number]

592005788

592005788

【氏名又は名称】

[Name]

山内 清

YAMAUCHI IT IS CLEAR

【住所又は居所】

[Address]

大阪府河内長野市北青葉台27-19

Osaka Prefecture Kawachinagano City north Aobadai 27 - 19

(71)【出願人】

(71) [Applicant]

【識別番号】

[Identification Number]

000000952

000000952

【氏名又は名称】

[Name]

鏡紡株式会社

KANEBO LTD. (DB 69-053-5489 )

【住所又は居所】

[Address]

東京都墨田区墨田五丁目17番4号

Tokyo Prefecture Sumida-ku Sumida 5-17-4

**Inventors**

(72)【発明者】

(72) [Inventor]

【氏名】

[Name]

山内 清

Yamauchi it is clear

【住所又は居所】

[Address]

大阪府河内長野市北青葉台27-19

Osaka Prefecture Kawachinagano City north Aobadai 27 - 19

**Agents**

(74)【代理人】

(74) [Attorney(s) Representing All Applicants]

【弁理士】

[Patent Attorney]

【氏名又は名称】

[Name]

赤岡 迪夫

Akaoka Michio

**Abstract**

(57)【要約】

(57) [Abstract]

【目的】

[Objective]

本発明は、マイクロカプセルの壁構成原料として、ケラチンの S-スルホ塩を使用し、有害な界面活性剤や架橋剤を使用することなくマイクロカプセルを製造する方法及びこれによって製造したマイクロカプセルを提供することを目的とする。

this invention uses S-sulfo salt of keratin as wall constitution starting material of microcapsule, method which produces microcapsule without using the toxic detergent and crosslinking agent and microcapsule which is produced with this is offered makes objective.

## 【構成】

ケラチンの S-スルフォ塩を含む水溶液を水に不溶性または難溶性の有機溶媒と混合し、これを超音波処理及び/又は激しく攪拌することを特徴とするマイクロカプセルの製造方法及びこれによって製造されるマイクロカプセル。

## Claims

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

ケラチン S-スルフォ塩を含む水溶液を水に不溶性または難溶性の有機溶媒と混合しこれを超音波処理及び/又は激しく攪拌することを特徴とするマイクロカプセルの製造方法。

## 【請求項 2】

超音波処理及び/又は激しく攪拌する前に酸化剤を加えることを特徴とする、請求項 1 に記載の製造方法。

## 【請求項 3】

酸化能力を欠くガス雰囲気下においてケラチン S-スルフォ塩を含む水溶液を水に不溶性または難溶性の有機溶媒と混合しこれを超音波処理及び/又は激しく攪拌して乳濁液を調製した後、酸化剤を加えて攪拌することを特徴とするマイクロカプセルの製造方法。

## 【請求項 4】

前記ケラチン S-スルフォ塩を含む水溶液が、スルフィド基若しくはジスルフィド結合を有するタンパク質若しくはペプチド又はスルフィド基若しくはジスルフィド結合を有するポリビニルアルコールを更に含むものであることを特徴とする、請求項 1 乃至 3 のいずれかに記載の製造方法。

## 【請求項 5】

ケラチン S-スルフォ塩を壁構成原料として用いるマイクロカプセル。

## Specification

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

## 【産業上の利用分野】

本発明は、ケラチンを壁材として含有し、染料、香料、医薬品、農薬、酵素その他の薬剤の包含に、又は酵素等の固定化に好適なマイクロカプセル

## 【Constitution】

aqueous solution which includes S-sulfo salt of keratin it mixes with the organic solvent of insoluble or poorly soluble to water, ultrasonic treatment and/or agitates this extremely the manufacturing method of microcapsule which is made feature and microcapsule. which is produced with this

## 【Claim(s)】

## 【Claim 1】

aqueous solution which includes keratin S-sulfo salt it mixes with organic solvent of the insoluble or poorly soluble to water and ultrasonic treatment and/or agitates this extremely manufacturing method. of microcapsule which is made feature

## 【Claim 2】

ultrasonic treatment and/or before extremely agitating, oxidant is added, manufacturing method. which it makes feature, states in Claim 1

## 【Claim 3】

aqueous solution which includes keratin S-sulfo salt in under gas atmosphere which lacks the oxidizing capability it mixes with organic solvent of insoluble or poorly soluble to water and ultrasonic treatment and/or agitates this extremely and after manufacturing emulsion, it agitates including oxidant manufacturing method. of microcapsule which is made feature

## 【Claim 4】

aqueous solution which includes aforementioned keratin S-sulfo salt, sulfhydryl basis or the protein or is something which furthermore includes peptide or sulfhydryl which possess disulfide bond basis or polyvinyl alcohol which possesses disulfide bond, the manufacturing method. which it makes feature, states in any of the Claim 1 to 3

## 【Claim 5】

microcapsule. which uses keratin S-sulfo salt as wall constitution starting material

## 【Description of the Invention】

## 【0001】

## 【Field of Industrial Application】

this invention contains keratin dye, perfume, drug, pesticide, enzyme other chemical includes, or regards preferred microcapsule and its manufacturing method in

セル及びその製造方法に関する。

[0002]

[従来の技術]

従来のマイクロカプセルの製造方法には化学的技法(界面重合法や in situ 重合法)、物理・化学的技法(水溶液や有機溶媒からの相分離法、噴霧凝固造粒法等)、物理・機械的技法等がある。

界面重合法では、水相のモノマーと油相のモノマーを界面で重合させ、不溶性のポリマー被膜を形成させる。

しかし、この反応のために入手できるモノマーは非天然系のもののみであり、得られるポリマー被膜は生体適合性がないか若しくは低いものに限られ、生分解性にも乏しい。

また、芯物質とリアクタントとが反応する場合(例えば、タンパク質や酵素のように反応性のアミノ基やカルボキシル基を持つ場合など)、芯物質が反応により変化し得るという欠点もある。

[0003]

物理・化学的技法として最もよく知られている相分離法は、ポリマーの水溶液又は油溶液からなんらかの方法でポリマーの濃厚相を芯物質表面に析出させてマイクロカプセル化する方法であるが、系の酸性度、ポリマーの濃度等に強く影響されるため、これらの条件因子を熟知しておかなければならない。

物理・機械的技法では、カプセル化のための原液を噴霧してこれを熱風と接触させ揮発性成分を蒸発させて乾燥するスプレードライニングが代表的であるが、装置が比較的柔軟性に乏しく、同じ装置ではマイクロカプセルの物性を大きくは変化させることができない上、被乾燥液を乾燥室内に輸送できるものでなければならない。

また、カプセルの壁構成原料に安定化剤としてドデシル硫酸ナトリウム等の界面活性剤が微量にせよ含まれている場合が多く、またはコラーゲン等を使用してカプセル化する場合には架橋剤として生体に有毒な物質を使用せざるを得ない場合が多い。

[0004]

[発明が解決しようとする課題]

本発明の課題は、カプセルの壁構成原料とし

enzyme or other fixation as the wall material.

[0002]

[Prior Art]

chemical technique (interfacial polymerization method and in-situ polymerization method), physical \* chemical technique (aqueous solution and phase separation method, atomization solidification granulating method etc from organic solvent), there is a physical \* mechanical technique etc in manufacturing method of the conventional microcapsule.

With interfacial polymerization method, polymerizing monomer of aqueous phase and monomer of oil phase with interface, it forms insoluble polymer coating.

But, as for monomer, which can be procured for this reaction as for polymer coating which with only those of unnatural type, is acquired is not a biocompatibility, or are limited by low ones, are scanty to also biodegradability.

In addition, when core substance and reactant react, (Like for example protein and enzyme when it has amino group of reactivity and carboxyl group etc), there is also a deficiency that core substance can change with reaction.

[0003]

phase separation method which is well known as physical \* chemical technique, from aqueous solution or the oil solution of polymer with a some method precipitating concentrated phase of the polymer to core substance surface, is method which microencapsulation is done, but because it has an influence on concentration etc of acidity, polymer of system strongly, these condition factor must be mastered.

With physical \* mechanical technique, atomization doing starting liquid for encapsulation, this contacting with hot air, spray dry ニング which evaporating, dries volatile component is representative, but in addition to equipment is lacking in the flexibility relatively, with same equipment property of microcapsule changes largely and being possible, It must be something which can transport suffering drying liquid inside drying chamber.

In addition, when sodium dodecyl sulfate or other detergent does is included in trace amount as stabilizer is many in wall constitution starting material of capsule, or using the collagen, etc when encapsulation it does, you must use toxic substance for the organism as crosslinking agent, when is many.

[0004]

[Problems to be Solved by the Invention]

problem of this invention is to use keratin S-sulfo salt which

て、天然ケラチン含有物質より容易に調製されるケラチン S-スルフォ塩を使用することである。

更に本発明の課題は、生体に適用するに当たり、ドデシル硫酸ナトリウムなどの界面活性剤や毒性の強い架橋剤を使用することなく、且つ簡単な装置と方法により薬剤の含包に適したマイクロカプセルを提供することである。

なお、本明細書において、「ケラチン S-スルフォ塩」とは、ケラチンを構成するアミノ酸残基のうちシステイン残基のスルフィドリル基(-SH)が $-S-O_3^-X^+$  ( $X^+$  は  $Na^+$  又は  $K^+$  等)に変換されているものをいう。

[0005]

[課題を解決するための手段]

羊毛、獣毛、羽毛等のケラチン含有物質を  $M_2S_2O_3 \cdot M_2S_4O_6$  (M はナトリウムまたはカリウムを示す。)の水溶液(pH7-9.5 の緩衝液)で処理することにより、容易にケラチン S-スルフォ塩の水溶液が得られる[Encyclopedia of Polymer Science and Technology, N.M. Bikales 編集、8 巻、Interscience Publishers、New York (1964)、第 1 頁。以下「文献 1」という。]。

このケラチン S-スルフォ塩は、原料としたケラチン含有物質によって変動するものの、スルフィドリル基が $-S-O_3^-X^+$  ( $X$  はナトリウム又はカリウム)の形に変換されたシステイン残基をアミノ酸 100 残基当たり通常 4 乃至 10 個有している。

[0006]

本発明者は、ケラチン S-スルフォ塩に基づくマイクロカプセルの製造の可能性について検討したところ以下の結果を得、これにより本発明を完成した。

(1) ケラチン S-スルフォ塩の水溶液を例えばトルエン、ヘキサン等の水に不溶性又は難溶性の有機溶媒と混合し、0 乃至 50 deg C にて 10 秒乃至 10 分間超音波照射することにより、該有機溶媒を芯物質として効率的に閉じ込めたマイクロカプセルが得られることを見出した。

また、該混合の比率はケラチン S-スルフォ塩の水溶液の濃度及びマイクロカプセルの使用目的によって異なるが、通常は(ケラチン S-スルフォ塩の水溶液体積/有機溶媒体積)=0.3 乃至 3 であることが好ましいことを見出した。

[0007]

(2) 上記項目(1)の混合物にケラチン S-スルフォ塩の $-S-O_3^-X^+$  基の数に対応して少量の過酸

is manufactured more easily than natural keratin containing substance as wall constitution starting material of capsule.

Furthermore problem of this invention, when it applies to organism, is to offer microcapsule which is suited for containing package of the chemical without using crosslinking agent where sodium dodecyl sulfate or other detergent and toxicity are strong, at same time by simple equipment and method.

Furthermore, "keratin S-sulfo salt" with, sulfhydryl basic (-SH) of inside cysteine residue of the amino acid residue which forms keratin  $-S-O_3^-X^+$  means that it is converted to the (As for  $X^+Na^+$  or  $K^+$  etc) in this specification.

[0005]

[Means to Solve the Problems]

aqueous solution of keratin S-sulfo salt is acquired easily by treating wool, animal fur, feather or other keratin containing substance with aqueous solution (buffer of pH 7-9.5) of  $M_2S_2O_3 \cdot M_2S_4O_6$  (M shows sodium or potassium.), (Encyclopedia of Polymer (0032 - 3861, POLMAG) Science and technology, N.M. Bikales compilation and Vol.8, Interscience Publishers, New York (1964), below first page. "literature 1" with you say.).

Although it fluctuates with keratin containing substance which is made starting material, sulfhydryl basis  $-S-O_3^-X^+$  cysteine residue which is converted to shape of (As for X sodium or potassium) per amino acid 100 residue usually 4 to 10 has had this keratin S-sulfo salt.

[0006]

this inventor when it examined concerning possibility of production of the microcapsule which is based on keratin S-sulfo salt obtained result below, completed this invention because of this.

aqueous solution of (1) keratin S-sulfo salt it mixed with organic solvent of insolubility or the poorly soluble to for example toluene, hexane or other water, microcapsule which is shut in in efficient by 10 second to 10 min ultrasound irradiation doing, with said organic solvent as core substance with 0 to 50 deg C is acquired discovered.

In addition, ratio of said mixture it differs in concentration of the aqueous solution of keratin S-sulfo salt and use objective of microcapsule, but usually they are (aqueous solution cubic measure / organic solvent volume of keratin S-sulfo salt) = 0.3 to 3, it is desirable, you discovered.

[0007]

Corresponding  $-S-O_3^-X^+$  to number of keratin S-sulfo salt in mixture of (2) above-mentioned item (1), after adding.

化水素、過ヨウ素酸ナトリウム等の酸化剤を加えた後、超音波照射し又はボルテックスミキサー若しくは攪拌モーター等で激しく攪拌しても、同様なマイクロカプセルが得られることを見出した。

[0008]

(3) 上記項目(1)の混合物を、窒素ガスその他の酸化能力を欠くガス雰囲気下にて、超音波装置、ボルテックスミキサー又は攪拌モーター等で激しく攪拌して乳濁物とした上で、上記項目(2)に記載の酸化剤を添加混合してもマイクロカプセルが得られることを見出した。

[0009]

(4) ケラチン S-スルフォ塩とスルフヒドリル基又はジスルフィド結合を有する他のタンパク質若しくはペプチドを含む水溶液、又はケラチン S-スルフォ塩と非タンパク質でスルフヒドリル基若しくはジスルフィド結合を有する化合物とを含む水溶液を壁構成原料として使用し、項目(1)乃至(3)に記載の方法で処理してもマイクロカプセルが製造できることを見出した。

[0010]

(5) 使用する有機溶媒に予め染料、香料、医薬品等の物質を溶解しておくことによって、上記項目(1)乃至(4)の方法により、これらが溶媒とともに効率よくマイクロカプセルに含包されることを見出した。

[0011]

すなわち本発明は、ケラチン S-スルフォ塩含有水溶液を水に不溶性または難溶性の有機溶媒と混合しこれを超音波処理及び/又は激しく攪拌することを特徴とするマイクロカプセルの製造方法である。

更に本発明は、該水溶液に超音波処理等の前に酸化剤を添加し又は酸化能力を欠くガス雰囲気下での超音波照射等の後に酸化剤を添加し攪拌することを特徴とするマイクロカプセルの製造方法である。

本発明はまた、ケラチン S-スルフォ塩と、スルフヒドリル基又はジスルフィド結合を有するタンパク質若しくはペプチド又はスルフヒドリル基若しくはジスルフィド基を有する他の化合物とを含む水溶液を、上記と同様に処理することを中心とする、マイクロカプセルの製造方法である。

[0012]

hydrogen peroxide, sodium periodate or other oxidant of trace, the ultrasound irradiation it did and or it agitated extremely with vortex mixer or stirring motor etc, similar microcapsule is acquired discovered.

[0008]

Under gas atmosphere which lacks nitrogen gas other oxidizing capability, agitating mixture of (3) above-mentioned item (1), extremely with ultrasound equipment, vortex mixer, or the stirring motor etc after making emulsion, adding and mixing doing oxidant which it states in above-mentioned item (2), microcapsule is acquired discovered.

[0009]

Other protein or includes peptide aqueous solution, or keratin S-sulfo salt which possess (4) keratin S-sulfo salt and sulphydryl basis or disulfide bond and you used the aqueous solution which includes sulphydryl basis or compound which possesses the disulfide bond with non-protein as wall constitution starting material, treating with method which is stated in item (1) through (3), it can produce microcapsule you discovered.

[0010]

(5) dye, perfume, drug or other substance is melted in organic solvent which is used beforehand, these with solvent to be efficient containing package are done in microcapsule, by method of above-mentioned item (1) through (4) with, you discovered.

[0011]

Namely this invention keratin S-sulfo salt-containing aqueous solution mixes with organic solvent of insoluble or poorly soluble to the water and this ultrasonic treatment and/or extremely it agitates it is a manufacturing method of the microcapsule which is made feature.

Furthermore this invention adds oxidant before ultrasonic treatment or other in said aqueous solution and/or after ultrasound irradiation or other under gas atmosphere which lacks oxidizing capability adds the oxidant and it agitates it is a manufacturing method of microcapsule which is made feature.

In addition this invention, protein or aqueous solution which contains peptide or sulphydryl which possess keratin S-sulfo salt and sulphydryl basis or disulfide bond basis or other compound which possesses disulfide group, treats is designated as feature in same way as description above, it is a manufacturing method of microcapsule.

[0012]

以下に、本発明のマイクロカプセルの製造に使用する公知成分及び製法について説明する。

(i) ケラチン S-スルフォ塩含有水溶液: 以下に述べるケラチン S-スルフォ塩水溶液(項目 i-a)単独、ケラチン S-スルフォ塩(項目 i-a)に下記項目(i-b)若しくは(i-c)のいずれか一方を加えた混合物、又はケラチン S-スルフォ塩(i-a)に項目(i-b)及び(i-c)の双方を加えた混合物である。

[0013]

(i-a) ケラチン S-スルフォ塩水溶液: 羊毛、人髪、鶏羽、犬毛等ケラチンを含有物質より既知の方法(上記文献 1 参照)によって調製した。

[0014]

(i-b) ケラチン S-スルフォ塩と混合する他のタンパク質又はペプチド: ケラチン、コラーゲン、ゼラチン、フィブリノーゲン、シルク、卵白リゾチーム、インスリン等のメルカプト基やジスルフィド結合を有するタンパク質、グリシル-グリシル-システイン(Gly-Gly-Cys)や(グリシル-グリシル-システイン)<sub>2</sub>((Gly-Gly-Cyt)<sub>2</sub>)等のペプチド。

[0015]

(i-c) 非タンパク質でメルカプト基又はジスルフィド基を持つもの: スルフィド基を担持せしめたポリビニルアルコール(例えば、平均分子量 2000 に対してスルフィド基が 1 乃至 5 個のもの)などの高分子の水溶液や 2-メルカプトエチルエーテル(HSCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>SH)など有機ジスルフィド系化合物の水溶液。

[0016]

(ii) 有機溶媒: 水に難溶な炭化水素系溶媒であるトルエン、キシレン、ヘキサン、デカン、シクロヘキサン等が最も好ましいが、ジエチルエーテル等のエーテル型溶媒やフルオロシクロヘキサン、フロン 113 等の含ハロゲン炭化水素も使用できる。

しかし、水に対する溶解度の低い溶媒であればこれらに限るものではない。

[0017]

(iii) 酸化剤: 空気、酸素、過酸化水素、過ヨウ素酸ナトリウム、過硫酸アンモニウム、ヨウ素酸カリウム等が好ましく用いられる。

また、これら酸化剤と共に、酸化促進剤又は触媒として、例えば鉄イオンを併用することができる。

Below, you explain concerning public knowledge component and production method which are used for production of microcapsule of this invention.

In keratin S-sulfo saline solution (item i- a ) alone, keratin S-sulfo salt (item i- a ) which is expressed below (i ) keratin S-sulfo salt -containing aqueous solution: below-mentioned item (i- b ) or item (i- b ) and it is a mixture which adds both parties of (i- c ) in mixture, or keratin S-sulfo salt (i- a ) which adds any one of (i- c ).

[0013]

keratin such as (i- a ) keratin S-sulfo saline solution: wool, human hair, chicken feather and dog wool was manufactured with known method (Above-mentioned literature 1 reference) than containing substance.

[0014]

protein; glycyglycyl-cysteine which possesses other protein or peptide: keratin, collagen, gelatin, fibrinogen, silk, egg white lysozyme, insulin or other mercapto group and disulfide bond which are mixed with (i- b ) keratin S-sulfo salt (Gly-Gly-Cys ) and (glycyl-glycyl-cystine ) <sub>2</sub> ((Gly-Gly-Cyt ) <sub>2</sub> ) or other peptide.

[0015]

(i- c ). With non- protein aqueous solution. of organic disulfide compound such as mercapto group or aqueous solution of polyvinyl alcohol (Vis-a-vis for example average molecular weight 2000 sulfhydryl basis 1 to 5 thing. ) or other polymer which thing: sulfhydryl basis which has disulfide group bearing is done and 2 -mercapto ethyl ether (HSCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>SH )

[0016]

toluene, xylene, hexane, decane, cyclohexane etc which is a poorly soluble hydrocarbon solvent in (ii ) organic solvent: water is most desirable, but you can use also diethyl ether or other ether type solvent and fluoro cyclohexane, freon 113 or other halogen containing hydrocarbon.

But, if it is a solvent where solubility for water is low, it is not something which is limited to these.

[0017]

It can use (iii ) oxidant: air, oxygen, hydrogen peroxide, sodium periodate, ammonium persulfate, iodic acid potassium etc desirably.

In addition, for example iron ion can be jointly used with these oxidant, as the oxidation promoter or catalyst.



[0018]

(iv) マイクロカプセルの製法:

(iv-1) 超音波法: 超音波装置は試料に超音波を照射することができる装置であればいかなるものでもよいが、マイクロカプセルの生成効率を高めるにはチタン等の金属プローブ先端より超音波を発生させるプローブ型の装置が好ましい。

超音波照射条件は試料の成分と体積により適宜調整するが、一般にケラチン S-スルフォ塩水溶液と有機溶媒の総体積 10mL に対し、30 乃至 50W にて 10 秒乃至 5 分の間照射すればよい。

なお、使用した有機溶媒によっては、マイクロカプセルの生成効率が低い場合があるが、その際は、超音波処理に先立ち微量の過酸化水素等の酸化剤を添加しておけば、生成効率を増大させることができる。

また、窒素ガス等の酸化力を欠く気体雰囲気下にて超音波処理し、生じた乳濁状の混合物に酸化剤を加えてもよい。

この手法は、芯物質が酸化されやすい場合に芯物質の酸化を防止しつつマイクロカプセルを形成する効果があり特に有用である。

酸化剤の使用量は、おおむね原料中の S-スルフォ基(-S-SO<sub>3</sub><sup>-</sup>基) に対して 1 乃至 6 倍の酸化剤の分子個数に相当する量である。

ケラチン S-スルフォ塩とそれ以外の壁構成原料 [上記項目(i-b)及び(i-c)]の混合比は、ケラチン S-スルフォ塩に対して 1 乃至 500 重量%用いることができる。

有機溶媒量は、芯物質の溶解性に応じて変わるが、ケラチン S-スルフォ塩と上記壁構成原料の水溶液総量に対して、0.1 乃至 5 倍体積、通常は 0.5 乃至 2 倍体積使用する。

[0019]

(iv-2) 攪拌法: 壁構成原料は上記項目(iv-1)と同様であるが、超音波処理の代わりにボルテックスミキサーで激しく振動させつつ攪拌するか、又は攪拌モーターにより激しく攪拌する。

なお、処理前に、酸化剤を微量(S-スルフォ基 1 個に対して 1 乃至 6 倍の酸化剤の分子個数)加えておくか、攪拌して生じた乳濁状の混合物に酸化剤を加え、その後該酸化物がよく混合する

[0018]

production method: of (iv) microcapsule

(iv-1) ultrasound method: ultrasound equipment if it is a equipment which can irradiate ultrasound to the sample, is good any ones, but to raise production efficiency of microcapsule, the equipment of probe type which generates ultrasound is desirable from titanium or other metal probe tip.

You adjust ultrasound irradiation condition appropriately with component and volume of sample, if, but generally vis-a-vis keratin S-sulfo saline solution and the total volume 10 ml of organic solvent, with 30 to 50W between 10 second to 5 min it should have irradiated.

Furthermore, with organic solvent which is used, there are times when the production efficiency of microcapsule is low, but at that case, if it precedes ultrasonic treatment and adds hydrogen peroxide or other oxidant of trace amount, production efficiency can be increased.

In addition, ultrasonic treatment it does under gas atmosphere which lacks nitrogen gas or other oxidative strength in mixture of suspension which it occurs including oxidant it is good.

This technique, when core substance oxidation it is easy to be done, while to prevent oxidation of core substance is an effect which forms microcapsule and especially it is useful.

amount used of oxidant is quantity which is suitable to molecule number of oxidant of 1 to 6 time in general vis-a-vis S-sulfo basic (-S-SO<sub>3</sub><sup>-</sup> basis) in starting material.

keratin S-sulfo salt 1 to 500 weight% you can use proportion of wall constitution starting material {Above-mentioned item (i-b) and (i-c)} other than that, vis-a-vis keratin S-sulfo salt.

organic solvent amount, it changes according to solubility of core substance, but 0.1 to 5 times volume, usually 0.5 to 2-fold volume you use vis-a-vis aqueous solution total weight of keratin S-sulfo salt and above-mentioned wall constitution starting material.

[0019]

(iv-2) stirring method: wall constitution starting material above-mentioned item (iv-1) with it is similar, but while in place of ultrasonic treatment vibrating extremely with vortex mixer, it agitates, or it agitates extremely due to the stirring motor.

Furthermore, before treating, trace amount (Vis-a-vis S-sulfo basis 1 molecule number of oxidant of 1 to 6 time) it adds oxidant, or agitates and in order to mixture of suspension which it occurs after that for said oxide to mix well including

よう、緩く撹拌してもよい。

【0020】

(v) マイクロカプセルの単離は次のようにして行なうことができる。

(v-1) 処理液をそのまま濃縮するか又は乾燥する。

乾燥は例えば凍結乾燥により行うことができる。

【0021】

(v-2) 処理液を遠心して、マイクロカプセルを分離分画する。

このままではマイクロカプセルの外部にマイクロカプセルの生成に与からなかった壁構成原料や酸化剤などが不純物として残る場合があるため、マイクロカプセル画分に水や緩衝液を加えて撹拌の後遠心し、再びマイクロカプセルを分離分画する。

この操作を数回繰り返した後、マイクロカプセル分散液をそのまま利用するか、濃縮又は乾燥(凍結乾燥等で)する。

【0022】

(v-3) 処理液をセロファン膜等の半透膜を利用して、水や緩衝液あるいは香料、染料、生物活性物質などを溶解した水溶液に対して透析する。

透析液をそのまま利用するか、濃縮又は乾燥(凍結乾燥等で)する。

【0023】

ケラチン S-スルフォ塩含有水溶液が不溶化してカプセル壁となる機構は、詳しくは明らかでない。

しかし水中での超音波照射により水分子から酸化力の強い  $H_2O_2$  や  $HO_2$  が発生することはよく知られており(例えば、B. Lippitt, J.M. McCord, I. Fridovich, J. Biol. Chem., 247, 4688(1972) )、一方、本発明者は、 $R-S-SO_3^- Na^+$  (R はメチル、ヘキシル等の炭化水素基)の水溶液を酸素存在下に超音波処理することにより、相当するジスルフィド化合物( $R-S-S-R$ )が生ずることを見出している(K. Yamauchi, Bull. Chem. Soc. Jpn. に投稿予定)。

この知見から推定して、ケラチン S-スルフォ塩のアミノ酸残基のうち、S-スルフォ化されたシステイン残基の  $-S-SO_3^-$  基がジスルフィド結合へと変

oxidant, it is possible to agitate loosely.

【0020】

Isolation of (v) microcapsule does following way it is possible.

It concentrates (v-1) treatment solution that way, or dries.

It dries with for example lyophilizing, it is possible.

【0021】

centrifugation doing (v-2) treatment solution, separation fraction it does microcapsule.

Because this way in outside of microcapsule giving are not driven the wall constitution starting material and oxidant etc which there are times when it remains as impurity in formation of microcapsule, rear centrifugation of churning it does in microcapsule fraction including water and buffer, the separation fraction does microcapsule again.

several times after repeating this operation, it utilizes microcapsule dispersion that way, or it concentrates or dries (With lyophilizing etc).

【0022】

(v-3) treatment solution making use of cellophane film or other semipermeable membrane, dialysis is done vis-a-vis the aqueous solution which melts water and buffer or perfume and dye, bioactive substance etc.

It utilizes dialysis liquid that way, or it concentrates or dries (With lyophilizing etc).

【0023】

keratin S-sulfo salt-containing aqueous solution doing, insolubilization as for mechanism which becomes capsule wall, as for details it is not clear.

But it is informed well and that  $H_2O_2$  and  $HO_2$  where the oxidative strength is strong at underwater from water molecule by ultrasound irradiation occur (for example B. Lippitt, J.M. McCord, I. Fridovich, Journal of Biological Chemistry (0021 - 9258, JBCHA3). 247 and 4688 (1972) ), on one hand, as for this inventor, disulfide chemical compound ( $R-S-S-R$ ) which is suitable aqueous solution of  $R-S-SO_3^- Na^+$  (As for R methyl, hexyl or other hydrocarbon group) by ultrasonic treatment doing under oxygen existing, occurs, you have discovered, (In K. Yamauchi, Bulletin of the Chemical Society of Japan (0009 - 2673, BCSJA) contribution schedule).

Presuming from this knowledge, among amino acid residue of keratin S-sulfo salt, to S-sulfo to disulfide bond by fact that it converts you can think  $-S-SO_3^-$  basis of cysteine residue

換することによる高分子鎖間の架橋形成の結果によるものと考えられる。

また酸化剤の添加はジスルフィド結合への変換を促進するものと考えられる。

[0024]

カプセル直径は、ケラチン S-スルフォ塩含有水溶液の種類、ケラチン S-スルフォ塩含有水溶液に対する有機溶媒の体積比、超音波処理又は攪拌の態様や時間等により変動して一概に規定できないが、1.5 重量%ケラチン S-スルフォ塩水溶液とトルエンの 1:1 体積混合物(6mL)を室温にて 3 分間、30W にて超音波処理した場合は、1 乃至 3  $\mu$ m を主とした微小球であることが光散乱法により求められ、同サンプルを透過型電子顕微鏡で観察したところ、壁厚は約 0.02  $\mu$ m と極めて薄く、紙風船様の形態であった。

[0025]

#### [実施例]

以下に実施例を挙げて更に詳しく説明するが、本発明はこれらに限定されるものではない。

#### [実施例 1]

ケラチン S-スルフォ塩水溶液( $X^+ = Na^+$ )の調製: 羊毛(水洗し、ジクロロメタンで脱脂済み; 5g)、 $Na_2SO_3$  (1.3g)、 $Na_2S_4O_6 \cdot 2H_2O$  (1.5g)、尿素 (24g) と 0.1M の tris-緩衝液(pH9; 50mL)の混合物を 25 deg C で 24 時間攪拌した。

不溶物を濾過して除去した後、濾液をセロファンチューブ(スペクトラ/ポア 4)に加え、脱イオン水に対して透析し無色透明のケラチン S-スルフォ塩水溶液(110mL; 1.3 乃至 1.8 重量%)を得た。

[0026]

#### [実施例 2]

広口試験管にケラチン S-スルフォ塩水溶液(ナトリウム塩; 濃度は 1.5 重量%)(5mL)とトルエン(3mL)を入れ、マグネットバーで混合物を間接的に攪拌しつつ、25 deg C にて 30W の出力で 3 分間、超音波照射した。

生じた懸濁液を 2000 回転/分で 15 分間遠心し、白濁固形物を分離し、水(10mL)を加え、攪拌後、同様に遠心した。

同じ洗浄操作を更に 2 回繰り返した後、凍結乾

which is converted thing with result of the crosslink formation between polymer chain.

In addition addition of oxidant is thought thing which promotes conversion to disulfide bond.

[0024]

capsule diameter fluctuating with volume ratio, ultrasonic treatment of organic solvent for kind, keratin S-sulfo salt-containing aqueous solution of the keratin S-sulfo salt-containing aqueous solution or embodiment and time etc of churning, rule is not possible unconditionally. 1.5 When weight% keratin S-sulfo saline solution and 1: 1 volume mixture (6 ml) of toluene with the room temperature ultrasonic treatment it does with 3 min, 30W, it is a microsphere which makes 1 to 3  $\mu$ m main, it was sought by light scattering method, when same sample is observed with transmission electron microscope, wall thickness approximately 0.02  $\mu$ m quite was thin, it was a paper balloon way morphological form.

[0025]

#### [Working Example(s)]

Listing Working Example below, furthermore you explain in detail, but the this invention is not something which is limited in these.

#### { Working Example 1 }

Manufacturing: wool of keratin S-sulfo saline solution ( $X^+ = Na^+$ ) (water wash it does, degreasing is completed with dichloromethane; 5 g),  $Na_2SO_3$  (1.3 g), the  $Na_2S_4O_6 \cdot 2H_2O$  (1.5 g), urea (24 g) with mixture of tris-buffer (pH 9; 50 ml) of 0.1 M 24 hours was agitated with 25 deg C.

Filtering insoluble matter, after removing, dialysis it did filtrate in addition to cellophane tube (Spectra/pore 4), vis-a-vis deionized water and acquired keratin S-sulfo saline solution (110 ml; 1.3 to 1.8 weight%) of colorless and transparent.

[0026]

#### { Working Example 2 }

While keratin S-sulfo saline solution (As for sodium salt; concentration 1.5 weight%) (5 ml) with inserting toluene (3 ml) in the wide mouth test tube, with magnet bar agitating mixture to indirect, with 25 deg C 3 min, ultrasound irradiation it did with output of 30 W.

15 min centrifugation it did suspension which it occurs with 2000 rpm, separated clouding solid, after stirring, centrifugation it did in same way including the water (10 ml).

Furthermore twice after repeating same washing operation,

燥した。

得られた白色粉末状物質(約 0.06g)は、透過型電子顕微鏡観察によれば、比較的均一なマイクロカプセルであり、壁厚は約 0.02  $\mu$ m、直径 1 乃至 3  $\mu$ m であった。

[0027]

{実施例 3}

広口試験管にケラチン S-スルフォ塩水溶液(ナトリウム塩;濃度は 1.5 重量%(5mL)とトルエン(3mL)を加え、窒素ガス雰囲気下、25 deg C にて 5 分間超音波照射した。

生じた白色懸濁液に 30% 過酸化水素水(0.07mL)を加え、緩く振盪した後、15 分間放置した。

次いで 2000 回転/分で 15 分間遠心し、白色固形物を分離し、水(20mL)を加え、攪拌後、同様に遠心した。

同じ洗浄操作を更に 2 回繰り返した後、直ちに凍結乾燥した。

得られた白色粉末状物質(約 0.05g)の透過型電子顕微鏡観察によれば、生じたマイクロカプセルの直径は、ややばらつきがあるものの、2 乃至 5  $\mu$ m であった。

[0028]

{実施例 4}

広口試験管に下記の方法で製造したケラチンの 1.3%水溶液(5mL)を加え、次いでケラチン S-スルフォ塩水溶液(ナトリウム塩;濃度は 1.5 重量%(5mL)を加え、充分に振動攪拌した。

次いでスダン IV(7mg)を溶解して含むトルエン(5mL)を加え、マグネットバーで混合物を間接的に攪拌しつつ、25 deg C にて 30W の出力で 3 分間、超音波処理した。

生じた懸濁液を 2000 回転/分で 15 分間遠心し、上層の固形物を分離し、純水(5mL)に分散した。

同分散液を凍結乾燥することにより、約 0.12g の粉末が得られた。

分散液の電子顕微鏡観察によれば、比較的均一な粒子(直径 1 乃至 3  $\mu$ m)を示した。

加えた赤色色素の殆どを当該マイクロカプセルが内部に含むことは、凍結乾燥物をベンゼンに

lyophilizing was done.

As for white powder quality (Approximately 0.06 g) which it acquires, according to transmission electron microscope observation, relatively with uniform microcapsule, as for wall thickness they were approximately 0.02  $\mu$ m, diameter 1 to 3  $\mu$ m.

[0027]

{Working Example 3}

Under nitrogen gas atmosphere, 5 min ultrasound irradiation it made wide mouth test tube with 25 deg C keratin S-sulfo saline solution (As for sodium salt; concentration 1.5 weight%) (5 ml) with including toluene (3 ml).

After shaking making loosely white suspension which it occurs including 30%hydrogen peroxide water (0.07 ml), 15 min it left.

Next 15 min centrifugation it did with 2000 rpm, separated white solid, after stirring, centrifugation it did in same way including water (20 ml).

Furthermore twice after repeating same washing operation, lyophilizing was done at once.

According to transmission electron microscope observation of white powder quality (Approximately 0.05 g) which it acquires, the diameter of microcapsule which it occurs, although a little there is a scatter, was 2 to 5  $\mu$ m.

[0028]

{Working Example 4}

It vibrated agitated to satisfactory including 1.3% aqueous solution (5 ml) of keratin which in wide mouth test tube is produced with below-mentioned method, including keratin S-sulfo saline solution (As for sodium salt; concentration 1.5 weight%) (5 ml) next.

Next melting sudan IV (7 mg), while with magnet bar agitating mixture to indirect including toluene (5 ml) which it includes, with 25 deg C 3 min, ultrasonic treatment it did with output of 30 W.

15 min centrifugation it did suspension which it occurs with 2000 rpm, separated solid of top layer, dispersed to pure water (5 ml).

powder of approximately 0.12 g acquired by lyophilizing doing the same dispersion.

According to electron microscope observation of dispersion, uniform particle (diameter 1 to 3  $\mu$ m) was shown relatively.

Majority of red color dye in addition dispersing lyophilizate to the benzene, dye leaking to outside liquid, you verified that

JP1993285375A

1993-11-2

分散して色素を外液に漏出させて、その紫外分光分析を行った結果より確認した。

[0029]

本実施例にて使用したケラチン水溶液は次の通りにて製造した。

脱脂羊毛(メリノ種)10g、ドデシル硫酸ナトリウム 6.0g、亜硫酸水素ナトリウム 16g 及び 8 モル濃度の尿素 300mL の混合液を密栓のうえ、50 乃至 55 deg C にて 1 時間、浴槽型超音波装置にて処理した。

不溶物を濾過して除去し、濾液をセロファンチューブに入れ、外液として 0.2 重量%亜硫酸水素ナトリウム水溶液(3L)を用いて透析し、透析物より少量の不溶物を遠心により除いてケラチンを 1.3 重量%含有する(Lowry 法)無色透明の水溶液約 330mL を得た。

なお、このケラチンはアミノ酸分析により、アミノ酸 100 残基当たりシステイン 7.6 個、シスチン 0.8 個を有し、ポリアクリルアミドゲル電気泳動では、分子量約 40000 及び 60000 のタンパク質(それぞれ 3 乃至 4 割、5 乃至 6 割)を主成分とする。

the this said microcapsule includes in internal, from result of doing ultraviolet spectroscopy.

[0029]

It produced keratin aqueous solution which is used with this working example to as follows.

degreasing wool (メ jp9 no kind) mixed solution of urea 300 ml of 10 g, sodium dodecyl sulfate 6.0g, sodium hydrogen sulfite 16g and 8 mole concentration on the plugging, with 50 to 55 deg C was treated with 1 hour, bath type ultrasound equipment.

Filtering insoluble matter, it removed, inserted filtrate in cellophane tube, the dialysis it did making use of 0.2 wt% sodium hydrogen sulfite aqueous solution (3 L.) as outside liquid, itacquired aqueous solution approximately 330 ml of (Lowry method) colorless and transparent which the keratin 1.3 wt% is contained due to centrifugation excluding insoluble matter of trace from dialysate.

Furthermore, per amino acid 100 residue cysteine 7.6, cystine 0.8 it possesses this keratin with the amino acid analysis, with polyacrylamide-gel electrophoresis, molecular weight approximately designates protein (Respectively 3 to 40%, 5 to 6 percentages) of 40000 and 60000 as main component.